



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin  
och husdjursvetenskap  
Institutionen för biomedicin och veterinär  
folkhälsovetenskap

# Immunförsvaret mot rabies

*Elin Orrenius*

*Uppsala  
2015*

*Kandidatarbete 15 hp inom veterinärprogrammet*

*Kandidatarbete 2015:01*



# Immunförsvaret mot rabies

## Immune response against rabies

*Elin Orrenius*

**Handledare:** Mikael Berg, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Examinator:** Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

*Kandidatarbete i veterinärmedicin*

**Omfattning:** 15 hp

**Nivå och fördjupning:** grundnivå, G2E

**Kurskod:** EX0700

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2015

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen / Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Delnummer i serie:** Kandidatarbete 2015:01

**Elektronisk publicering:** <http://stud.epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** Rabiesvirus, rabiesinfektion, immunförsvär, post vaccin

**Key words:** Rabies virus, rabies infection, immune response, post-exposure prophylaxis

Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap



## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

<b>Sammanfattning .....</b>	<b>1</b>
<b>Summary .....</b>	<b>2</b>
<b>Introduktion .....</b>	<b>3</b>
<b>Material och metoder .....</b>	<b>3</b>
<b>Litteraturöversikt .....</b>	<b>4</b>
Rabiesvirus.....	4
Från bett till utsöndring i saliv .....	4
Normalt immunförsvar mot virus.....	5
Nativa immunförsvaret .....	5
Adaptiva immunförsvaret.....	6
Immunförsvar mot rabiesinfektion.....	7
Nativa immunförsvaret .....	8
Adaptiva immunförsvaret.....	9
Immunförsvar vid vaccinering .....	11
Post-vaccinering.....	11
<b>Diskussion .....</b>	<b>12</b>
<b>Referenslista .....</b>	<b>15</b>



## **SAMMANFATTNING**

Rabiesvirus är en allvarlig sjukdom globalt då minst 35 000 människor mister livet varje år på grund av den fatala sjukdomen. Idag finns inget botemedel mot rabiesvirus när sjukdomen brutit ut, det enda skyddet är vaccinering. Hur immunförsvaret reagerar på viruset, varför inte immunförsvaret klarar av att eliminera viruset och vad post-vaccinering innebär undersöks i det här arbetet.

Rabiesvirus utsöndras i saliv och den vanligaste infektionsvägen för rabiesvirus är via bett från infekterad individ och för människa är hundbett största risken. När infektion har skett transporteras virus till centrala nervsystemet (CNS) via intraaxonal transport. Rabiesvirus är ett neurotropt virus och replikerar i CNS. Huruvida replikation sker innan viruset når CNS är ej klarlagt. Inkubationstiden varierar mellan individer, djurslag och infektionsvävnad, dock kan virusutsöndring ske en kort tid innan symptom uppkommer. Det finns två typer av symptombilder vid rabiesinfektion, en furiös och en paralytisk.

Immunförsvaret vid en rabiesinfektion består framförallt av ett interferon (IFN) svar som är direkt antiviralt och ger upphov till apoptos av infekterade celler. Perifert uppnås ett antikroppssvar men även ett cellmedierat svar där cytotoxiska T-celler har en viktig funktion. Dock undviker rabiesvirus immunförsvaret på flera sätt. Inget immunförsvaret uppnås innan viruset börjat replikera i CNS och då finns blod-hjärnbarriären som ett hinder för immunförsvaret. Att inget immunsvaret uppnås innan denna punkt i infektionen kan bero på den låga infektionsdos som krävs. Det typiska svaret att låta virusinfekterade celler genomgå apoptos undviker rabiesvirus genom att reglera nivåer av sitt glykoprotein. IFN inhiberas via rabiesvirus fosfoprotein. Apoptos av infekterade neuron undviks genom skapande av Negrikroppar som består av virusprotein och receptorn TLR3. Antikroppssvaret klarar ej av att eliminera rabiesvirus då det inte hinner nå CNS på grund av blod-hjärnbarriären. Det cellmedierade svaret undviks genom att rabiesvirus ger en uppreglering av FasL och B7-H1, vilket leder till T-cellsapoptos.

Det finns vaccin att tillgå för både människor och djur, men det är bara för människor som post-vaccinering är utvecklat. Post-vaccinering, det vill säga vaccinering efter exponering, är nära 100 % effektivt om det ges innan rabiesviruset når CNS. Behandlingen innebär inte bara vaccination utan även en grundlig sårrengöring, behandling med virusneutraliserande antikroppar (VNA) och en aktiv immunisering.

Rabiesvirus har många metoder att klara sig undan ett gott fungerande immunförsvaret och vaccinering är därför en bra metod för att stoppa virusspridningen. Rabies utrotades i stora delar av västra Europa genom distribuering av vaccin i bete till vilda djur. Fortsatta försök att kontrollera spridningen i den vilda populationen görs då detta tros vara viset att stoppa spridningen helt.

## SUMMARY

Rabies virus is the cause of serious disease worldwide, at least 35 000 people die every year because of this fatal disease. At the moment there is no medication available and after the symptoms of disease appears no treatment exists. Available vaccines function as prophylaxis and post-exposure prophylaxis, as long as the virus has not reached the central nervous system (CNS). How the immune system reacts to rabies virus, why the immune system cannot eliminate the virus and how post-exposure prophylaxis work are examined in this work.

Rabies virus is shed in saliva and the most common route of infection is by a bite from an infected animal and when it comes to human infection, it is due to dog bites. After infection the virus is rapidly transported to CNS through intra axonal transport. Rabies virus is a neurotropic virus that replicates in the CNS, but it is not known whether the virus replicates before it reaches the CNS or not. The incubation time varies between individuals, species and type of infected tissue. Virus shedding can however occur before the onset of symptoms. Two kinds of rabies forms are known, furious rabies and paralytic rabies.

The immune response to rabies virus should be initiated by interferon (IFN) production, which has an antiviral effect and results in apoptosis of infected cells. In the periphery an antibody and a cell-mediated response should be achieved. However, rabies virus escapes the immune system in several ways. There is no immune response until the virus replicates in the CNS. The blood-brain barrier makes it difficult for the immune system to reach the virus. Typical immune response to virus infections is that infected cells undergo apoptosis. Rabies virus is able to avoid this by regulating the amount of its Glyko-protein that is synthesized. Apoptosis of infected neurons is also avoided by the formation of Negribodies that consist of viral protein and the receptor TLR3. The effects of IFN is inhibited by the virus Phospho-protein. The antibody response that develops is not effective enough to eliminate the virus. This is due to the resistance of the blood-brain barrier. The cell-mediated response is avoided through upregulation of FasL and B7-H1 by the virus, which results in death of T-cells.

Vaccines both for humans and animals are available, but post-exposure prophylaxis (PEP) is available only for humans. Post-vaccination is almost 100 % effective if administrated before the virus reaches the CNS. PEP include proper wound cleaning, treatment with virus neutralizing antibodies (VNA) and active immunization.

Rabies virus uses several methods to avoid elimination by a perfectly working immune system. Vaccination is a good way to prevent virus from spreading. Rabies virus is close to extinction in parts of western Europe as a result of distribution of vaccine in baits to wild animals. Ongoing work to control the spread in the free population is believed to be a good way to control or even eradicate the rabies virus completely.



## INTRODUKTION

Rabies är en gammal och välkänd virusinfektion. De flesta humanfall av rabies förekommer i Afrika och Asien, men trots detta är det en ytterst viktig sjukdom globalt då den förekommer i alla världsdelar och dessutom har hund som stor smittspridare till människan. Årligen är det över 35 000 människor som mister livet, då de ej hinner få vaccin i tid, ej är medvetna om att djuret de blev bitna av var infekterat, allmän okunskap eller på grund av att vaccin ej finns att tillgå (Lackay *et al.*, 2008). Dock finns ett stort mörkertal då inte alla fall av rabies rapporteras. En studie gjord i Tanzania uppskattade den riktiga prevalensen av människor rabiesinfekterade genom hundbett, utan att ta hänsyn till olika områden, till tio gånger högre än rapporterat. Prevalensen skulle kunna vara 100 gånger större än rapporterat om hänsyn tas till olika områden (Cleaveland *et al.*, 2002).

Pasteur skapade ett första vaccin mot rabies redan år 1885 och då användes nervvävnad från experimentellt infekterade kaniner som vaccin. Utvecklingen har gått framåt och idag används inaktiverat virus (Folkhälsomyndigheten, 2013) eller ett levande attenuerat virus (Thoulouze *et al.*, 1997) som vaccin. Den vanligaste infektkällan, nära 95 % av alla humana fall, är via hundbett. Hunden är ett vanligt husdjur, vilket gör att det är en stor risk för människan (OIE, 2015). Rabiesvirus kan smitta alla varmblodiga däggdjur och är näst intill alltid dödlig (Dietzschold *et al.*, 2008). Vanligast är att rabies sprids till människor från hundar men det är vilda djur, till exempel rävar och fladdermöss, som är reservoarer, dock är det olika beroende på vilken del av världen som betraktas (Quinn *et al.*, 2011).

Endast 7 personer har överlevt infektionen (WHO, 2013) och det är därför intressant att undersöka hur immunförsvaret reagerar på infektionen och varför det inte klarar av att eliminera viruset. Vidare är det av intresse hur det kommer sig att post-vaccinering, det vill säga vaccinering efter infektion, fungerar. Detta är vad som undersökts i det här arbetet.

## MATERIAL OCH METODER

För att hitta litteratur gjordes sökningar i databaser. De databaser som använts var Web of Science, PubMed samt Science Direct. Även sökningar i SLU-databasen Primo gjordes. Sökord var: rabies virus, rabies infection, lyssavirus, immune response, vaccination, virology och immune system. Även sökningar på sidor som WHO, OIE, Folkhälsomyndigheten och FASS användes. Avgränsningar som gjorts var sökresultat enbart på svenska och engelska. Även avgränsning till infektion hos husdjur och människa har gjorts.

## LITTERATURÖVERSIKT

### Rabiesvirus

Rabiesvirus tillhör familjen Rhabdoviridae och genus Lyssavirus. Inom genus Lyssavirus finns 7 kända genotyper som alla ger klinisk sjukdom liknande som klassiskt rabiesvirus. De 7 genotyperna är rabiesvirus (genotyp 1), lagos batvirus, mokolavirus, duvenhagevirus, europeiskt bat lyssavirus 1, europeiskt bat lyssavirus 2 och australiskt bat lyssavirus. Varianter aktuella i Europa är rabiesvirus, europeiskt bat lyssavirus 1 och 2. Den rabies som drabbar hundar kallas urban rabies och den variant som drabbar vilda djur kallas sylvatisk rabies (Quinn *et al.*, 2011).

Rabiesvirus är ett negativt enkelsträngat RNA-virus där virionet har formen av en kula (Thoulouze *et al.*, 1997), se bild 1. Det är uppbyggt av fem proteiner: glykoprotein (G-protein), matrixprotein (M-protein), nukleoprotein (N-protein), fosfoprotein (P-protein) och RNA-beroende-RNA polymeras (L-protein) (Xiang *et al.*, 1995; Dietzschold *et al.*, 2008). G-proteinet, i form av en trimer, sitter på ytan av det lipidomslutna virionet och medierar bindningen till celler (Adedeji *et al.*, 2010). G-proteinet är det protein som används vid olika typer av vaccin då det ger upphov till ett kraftigt immunförsvar bestående av neutraliserande antikroppar, T hjälparceller och cytotoxiska T-celler (Dietzschold *et al.*, 2008). N-, P-, och L-protein är interna protein i virionet och tillsammans med virala RNAt bildar de ett komplex kallat ribonukleoproteinkomplex (RNP komplex). RNP komplexet aktiverar immunförsvaret genom att antigen känns igen på CD4+ T-celler. Komplexet antas spela en stor roll i utvecklandet av minne i T-celler vilket ger lång immunitet mot ny infektion (Dietzschold *et al.*, 2008).



Bild 1. Rhabdoviridae i elektronmikroskop. Källa: Wikimedia Commons (2015).

### Från bett till utsöndring i saliv

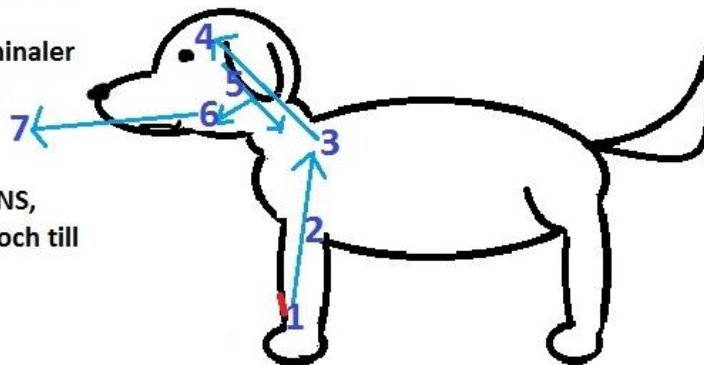
Virusets vanligaste smittväg är via bett (Johnson *et al.*, 2006a). Eftersom rabiesvirus sprids via saliv kan smittade individer som slickar på småsår, eller liknande på exempelvis händer, sprida smittan. Rabies kan även smitta via aerosol, men det är inte vanligt. Aerosol smitta är dosberoende och det krävs en hög dos för att bli infekterad. Det finns ingen risk att bli smittad via inhalation i närvaro av smittat djur. De tillfällen som aerosol smitta kan vara en risk är i grottor med en stor population av fladdermöss eller i laboratoriemiljö (Johnson *et al.*, 2006b).

Smitta direkt mellan människor kan också ske, men det är främst via organtransplantationer (Takayama, 2005).

Vid ett bitt kommer saliv från den smittade individen i kontakt med vävnaden hos den friska individen. Studier har gett olika resultat när det gäller huruvida viruset replikerar innan det når CNS eller inte och det är osäkert om viruset replikerar i muskelceller eller i annan vävnad vid bettytan. Efter eventuell replikation i celler vid bettytan (Dietzschold *et al.*, 2008) infekterar viruset snabbt lokala neuron (Johnson *et al.*, 2006a) genom icke-myeliniserade axonterminaler, för fortsatt transport till CNS via axonal vesikeltransport (Dietzschold *et al.*, 2008). När viruset befinner sig i CNS sprids det intraaxonalt (Quinn *et al.*, 2011). Rabiesvirus är ett neurotropt virus, vilket innebär att det replikerar i nervceller (Chopy *et al.*, 2011). När viruset transporterats till och infekterat CNS sprids det tillbaka till perifera nervsystemet (PNS) men även till det autonoma nervsystemet (Dietzschold *et al.*, 2008) genom att viruset frisätts vid axonterminaler (Quinn *et al.*, 2011). Viruset fortsätter till salivkörtlarna där det slutligen replikerar i mukogena acinära celler och utsöndras i saliven (Dietzschold *et al.*, 2008). Virusutsöndring kan ske 4-5 dagar innan symptom bryter ut (North Dakota Department of Health, 2013).

Symptom efter infektion kan uttrycka sig på två sätt, en paralytisk form och en furiös form. Formerna består av olika faser och kan innebära en furiös fas som övergår i paralytisk fas. Infektionen är i näst intill alla individer fatal (Lackay *et al.*, 2008). De olika formerna yttrar sig olika hos vissa djurslag, till exempel utvecklar katter oftare än hundar den furiösa varianten, medan rävar oftast utvecklar den paralytiska formen. Människor som utvecklar den paralytiska formen får svårigheter att svälja och denna form kallas därför även hydrofobi, vattuskräck, hos människor (Quinn *et al.*, 2011). Dock utvecklar människor i 80 % av fallen den furiösa formen av rabies (WHO, 2015). Inkubationstiden varierar beroende på djurslag och infektionsväg (Quinn *et al.*, 2011) och kan vara allt från ett par dagar upp till flera månader (WHO, 2013).

1. Bett från infekterad individ, upptag till nervcell via omyeliniserade axonterminaler
2. Transport intraaxonalt
3. Transport till CNS
4. Replikation i CNS
5. Transport tillbaka till PNS, autonoma nervsystemet och till spottkörtlar
6. Virus i spottkörtlar
7. Virusutsöndring i saliv



Figur 1: Transportväg för rabiesvirus.

## Normalt immunförsvar mot virus

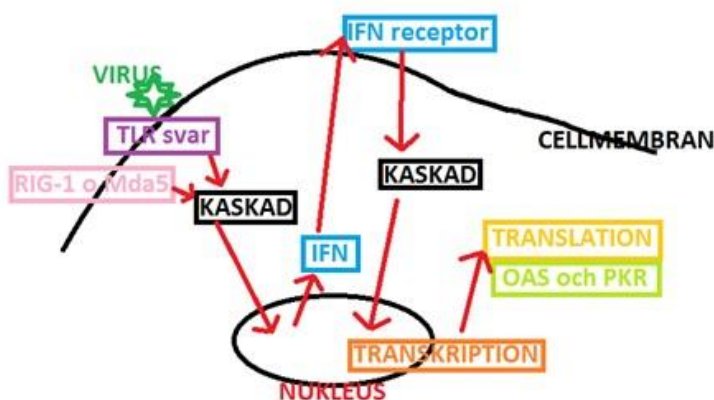
### Nativa immunförsvaret

Det nativa immunförsvaret mot virus består av interferoner (IFN), NK-celler, lysozym, kollektiner, defensiner från leukocyter och epiteliala mukosaceller. Dessa kan till exempel göra att de infekterade cellerna genomgår apoptos vilket leder till att viruset ej kan sprida sig. Virus

har speciella strukturer som känns igen på Pattern-Recognition Receptors (PRR), exempelvis RIG-1 och MDA5. Dessa känner igen dubbelsträngat RNA och skickar signal att aktivera IFN- $\beta$  produktion. Det andra systemet för att känna igen RNA virus är via toll-like receptors (TLR). Olika TLR känner igen olika RNA, det vill säga dubbelsträngat eller enkelsträngat RNA, men även andra strukturer. TLR kan länkas samman av en speciell typ av dendritiska celler och detta leder till produktion av typ 1 IFN (Tizard, 2013).

IFN är cytokiner som kan delas in i tre grupper. Typ I är den största gruppen och består av IFN- $\alpha$  och IFN- $\beta$ . Typ II har bara ett, IFN- $\gamma$ , som produceras av T-celler stimulerade av virusantigen. Typ III innefattar IFN- $\lambda$ . IFN uttrycks som svar på virusinfektion när TLR stimuleras och dess funktion är att styra signalering mellan lymfocyter och andra leukocyter. IFN- $\alpha$  och IFN- $\beta$  produceras inom några timmar från infektion och har effekt innan det adaptiva immunförsvaret hinner reagera (Tizard, 2013).

IFN kan stimulera NK-celler vilket får virusinfekterade celler att genomgå apoptos även om cytotoxiska T-celler (CTL) ej finns närvarande (Tizard, 2013). När IFN producerats binder de till IFN-receptorer där de ger upphov till en kaskadreaktion där JAK/STAT1 aktiveras och ett antiviralt tillstånd uppnås. Det finns fyra huvudsakliga signalvägar för att uppnå antiviral aktivitet. Genom den första signalvägen uppregleras syntesen av oligoadenylate syntetases (OAS) som aktiveras av dubbelsträngat RNA vilket leder till en nedbrytning av viralt RNA. Signalväg två resulterar i att Mx proteiner frisätts från intracellulära membran och binder virala nukleokapsider och andra viruskomponenter vilket gör att nya virus ej kan bildas. Signalväg tre resulterar i att proteinkinas R (PKR) aktiveras av viralt RNA och reglerar signalvägar som inhiberar translation av viralt mRNA. Den fjärde signalvägen är inte helt klarlagd och det är osäkert hur den påverkar det antivirala stadiet. Syntesen av ubiquitin-like protein ökar vilket ger nedbrytning av andra proteiner (Tizard, 2013).



Figur 2: Induktion och signalväg IFN.

## Adaptiva immunförsvaret

### Antikroppar

Adaptiva immunförsvaret mot virus består av antikroppar och cell-medierad immunitet. Antikroppar utvecklas som svar på antigen, i fallet vid virusinfektion består det av viruskapsid och höljeproteiner. Antikropparna har flera funktioner, de hindrar invasion av celler genom att

simulera fagocytos av fria virioner, stimulera komplementmedierad virolys av fria virioner och binda samman, eller binda till de fria virionerna vilket resulterar i att det finns färre infektionsdugliga virioner. Antikropparna svarar även på virala proteiner uttryckta på infekterade celler. De infekterade cellerna genomgår då komplementmedierad cytolys eller utsätts för antikroppsberoende cellmedierad cytotoxicitet (ADCC). Cytotoxiska celler som attraheras är lymfocyter, makrofager och neutrofiler. Virusneutraliserande antikroppar (VNA) är IgG och IgM som finns i serum och IgA som återfinns i sekret. Även IgE kan förekomma men har mindre betydelse vid virusinfektion. Antikroppar mot virus kan finnas kvar i flera år efter avläkt infektion (Tizard, 2013).

### *Cellmedierat svar*

Cellmedierat svar är det viktigaste vid virusinfektion då antigen kan presenteras på infekterade celler innan virusreplikationen påbörjats. Antigen som presenteras på major histocompatibility complex (MHC) klass-1, känns igen som främmande och dödas av cytotoxiska T-celler. T-cellsmedierad cytotoxicitet har störst effekt på virusinfektioner. Makrofager aktiveras och tar upp de infekterade cellerna, genom endocytos, som då destrueras. Cytotoxiska T-celler dör snabbt för att undvika cytotoxicitet mot friska celler men vissa T-celler utvecklar minne och dessa minnesceller kan finnas kvar som skydd mot ny infektion, med samma virus, under flera år (Tizard, 2013).

## **Immunförsvar mot rabiesinfektion**

När en individ blir infekterad är det, som nämnts tidigare, oklart om viruset replikerar innan det når CNS. Därför tror forskare att inget immunförsvar uppnås innan viruset finns i CNS. Att immunförsvaret dröjer kan bero på den låga koncentrationen av viruspartiklar som finns innan viruset börjat replikera (Johnson *et al.*, 2010). Vid rabiesvirusinfektion infekteras framför allt nervceller i CNS och det gör att viruset måste passera blod-hjärnbarriären, vilket är ett mycket viktigt steg i infektionen (Johnson *et al.*, 2006a). Passagen över blod-hjärnbarriären kan vara ett problem för immunförsvaret då blod-hjärnbarriären är till för att stänga ute celler och hindrar immunförsvarsceller att nå CNS (Hooper *et al.*, 1998). Rabiesvirus ger ingen ökning av permeabilitet i blod-hjärnbarriären, vilket försvårar ytterligare för immunförsvarscellerna (Phares *et al.*, 2006).

Vid transport mellan nervceller använder rabiesvirus acetylkolinreceptorer som receptor när det passerar neuronens synapser, vilket möjliggör snabb transport till CNS (Lentz *et al.*, 1983). För att antigen ska upptäckas måste det transporteras till lymfoid vävnad där det presenteras för B-celler. Transporten till den lymfoida vävnaden kan ge upphov till att immunförsvaret dröjer (Johnson *et al.*, 2010).

Ett typiskt svar för att hindra en virusinfektion är att virusinfekterade celler går i apoptos. Denna funktion kan rabiesvirus kontrollera via sitt G-protein. Låga nivåer G-protein främjar överlevnad av celler (Lafon, 2011). Apoptosen induceras av NF- $\kappa$ B som aktiverats av en oxidativ stress på grund av att virusprotein ansamlas, antingen i det endoplasmatiska retiklet eller i golgiapparaten (Thoulouze *et al.*, 1997). Dock kan viss nivå av den här typen av apoptos ses ändå, men det börjar för sent och hindrar ej virusspridningen (Thoulouze *et al.*, 1997).

## **Nativa immunförsvaret**

Det nativa immunförsvaret svarar på rabiesvirusinfektion med IFN-produktion. IFN kan passera över blod-hjärnbarriären till CNS där det har en direkt antiviral effekt och ansamlar CTL som kan eliminera virus (Hooper *et al.*, 1998). Ökade nivåer av STAT1, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , T-cells tillväxtfaktor- $\beta$  och TLR har setts vid infektionen (Johnson *et al.*, 2006a). TLR är viktiga för att känna igen virus och inducera produktion av typ I IFN (Lafon, 2011). När rabiesviruset infekterar och replikerar i CNS sker en uppreglering av typ I IFN och andra IFN inducerade gener, framför allt Mx1 som är ett antiviralt protein som binder viruskomponenter vilket gör att nya virioner ej kan bildas (Johnson *et al.*, 2006a). Transkriptionen av IFN syns ej, vilket kan bero på att rabiesvirusets P-protein kan inhibera IFN, dock är det enbart visat *in vitro* (Johnson *et al.*, 2006a).

Inhiberingen av det nativa immunförsvaret sker initialt genom att P-proteinet binder till STAT1 vilket hindrar IFN-signaleringsen. Translokation av STAT1 i kärnan kan ej ske vilket omöjliggör transkription av IFN (Vidy *et al.*, 2005). Om detta inte sker *in vivo* finns ytterligare en förklaring, nämligen att hjärnceller dör snabbt efter infektion innan transkriptionen av IFN hinner ske (Johnson *et al.*, 2006a). Då IFN transkriptionen ej sker i så hög grad som antagits är det oklart hur Mx1 kan öka då det är IFN-inducerat. En förklaring är att det finns andra signalvägar som ej är IFN beroende, till exempel via TLR (Johnson *et al.*, 2006a).

Rabiesvirus gör att det nativa immunförsvaret ej svarar som det ska då rabiesvirus kan undvika IFN-svaret även om infektionen inducerar PRR som RIG-1 och MDA5. Denna förmåga gör att viruset kan replikera i CNS trots ett inducerat nativt immunförsvaret (Chopy *et al.*, 2011). I en studie utförd av Chopy *et al.* (2011) infekterades möss som överuttryckte genen LGP2 med en variant av klassiskt rabiesvirus som används på laboratorier (CVS). LGP2 visades reglera RIG-1 negativt då det binder till dubbelsträngat RNA och hindrar att det känns igen av RIG-1, och förblir således inaktivt. Det kan även binda direkt till RIG-1 och inhibera aktiviteten och dess interaktion med interferon- $\beta$  promotor stimulator 1 (IPS-1) (Chopy *et al.*, 2011), som är en IFN-inducerande molekyl (Kawai *et al.*, 2005). Att interaktionen med IPS-1 hindras leder till att IFN-svaret minskar och därmed även RIG-1 svaret (Chopy *et al.*, 2011).

TLR3 kan inhibera axonal tillväxt och om IFN finns tillgängligt inducera apoptos. För att undvika detta bildar rabiesvirus Negrikroppar bestående av TLR3, N-protein och P-protein. Detta främjar neuronens överlevnad och skyddar infekterade neuron från apoptos vilket kan vara en strategi för överlevnad hos rabiesvirus. Förutom den här funktionen kan Negrikropparna fungera som produktionsplats för virus och lagringsplats för proteiner. Negrikropparna är 3-5  $\mu\text{m}$  stora och kan ses i elektronmikroskop där de är belägna som en inklusionskropp nära kärnan i cellen och saknar omslutande membran (Lafon, 2011). Eftersom Negrikropparna även kan ses i vanligt ljusmikroskop är det en bra och klassisk metod för att diagnostisera sjukdomen. Då tas vävnadsprov från CNS från infekterat djur och histopatologi genomförs där Negrikropparna kan ses (Lackay *et al.*, 2008).

Ytterligare en anledning till att immunförsvaret ej reagerar som det ska kan vara på grund av att rabiesvirus ger binjurehormontoxicitet vilket ger förlust av lymfoid vävnad (Johnson *et al.*, 2010). Denna nedreglering av immunförsvaret behöver dock inte bero på hormonbalansen, utan kan bero på cytokiner då en produktion av tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) i CNS under rabiesinfektion har setts. En studie som stödjer denna teori har utförts på möss som saknade

genen för TNF- $\alpha$  receptor, vilket resulterade i längre överlevnad i dessa möss. TNF- $\alpha$  inhiberar IFN- $\gamma$  produktionen som normalt sett attraherar neutrofiler, T-celler och B-celler (Camelo *et al.*, 2000). Studien visar på att längre överlevnad uppnås av lägre nivåer av T-celler, B-celler och neutrofiler. Dock anser Camelo *et al.* (2000) att detta är motsägande eftersom T-celler behövs för att eliminera viruset och det är mer troligt att det är monocyter och neutrofiler som ger den negativa effekten.

Sammanfattningsvis svarar det nativa immunförsvaret när viruspartiklar känns igen på TLR (Lafon, 2011) med IFN-svar som har antiviral aktivitet och attraherar CTL (Hooper *et al.*, 1998). Dock kan rabiesvirus inhibera IFN genom sitt P-protein (Vidy *et al.*, 2005) och denna förmåga gör att virus kan nå CNS trots att det finns ett fungerande immunförsvaret (Chopy *et al.*, 2011). TLR3 har en viktig funktion då det i närvaro av IFN inducerar apoptos i infekterade celler men detta undviker rabiesvirus genom att bilda Negrikroppar som omsluter TLR3 (Lafon, 2011). Det nativa immunförsvaret undviks ytterligare genom att rabiesvirus inducerar en förlust av lymfoid vävnad (Johnson *et al.*, 2010).

## **Adaptiva immunförsvaret**

### *Antikroppar*

Som tidigare nämnts är transporten av celler till CNS begränsad, och detta gäller även för ett antikroppar. Antikroppar är dock avgörande för att kunna eliminera virus och vid rabiesvirusinfektion når de sällan CNS, vilket kan vara en förklaring till varför individen ej överlever. Personen som överlevde rabiesvirusinfektion år 2004, trots att symptom uppträtt, hade detekterbara nivåer antikroppar i cerebrospinalvätska (CSF) och i serum. Vilket tyder på att antikropparna i detta fall transporterats till CNS och kunde eliminera virus (Roy & Hooper, 2008). Personen försattes i koma för att ge det humoral immunsvaret tid att utvecklas, vilket medförde höga IgG-titrar i CNS, något som inte är vanligt förekommande vid rabiesinfektion (Johnson *et al.*, 2010). Antikroppar hittas normalt sett i serum vid rabiesinfektion men dessa når inte CNS och kan då ej utöva någon viruseliminering (Roy & Hooper, 2008). Det är oklart om det är det perifera viruset eller virus i CNS som ger upphov till antikroppar. Fler studier behövs för att kunna dra slutsatser om hur immunförsvaret reagerar på naturlig infektion (Johnson *et al.*, 2010).

Virusneutraliserande antikroppar (VNA) har tidigare antagits vara viktiga i svaret mot rabies. Dessa utsöndras lokalt i CNS via migrerande B-celler, men B-cellerna har ej kunnat detekteras i CNS vid rabiesvirusinfektion. Förklaring till detta kan vara den limiterade transporten över blod-hjärnbarriären eller avdödande av migrerande B-celler inducerat av rabiesvirus (Lafon, 2011). VNA har troligen inhiberande verkan på virusspridning i periferin, men om viruset redan finns i CNS har de begränsad verkan (Hooper *et al.*, 2011).

IFN- $\gamma$  har en viktig roll i isotypswitch från IgM till IgG (VNA). Dock har dessa antikroppar ej hittats i CNS hos infekterade individer. Studier, med möss som ej har förmågan att producera IgG, visar att antikroppar ej kan vara delaktiga i eliminering av virus från CNS (Camelo *et al.*, 2000). Denna kunskap tyder på att IFN- $\gamma$  ensam, eller i kombination med IFN- $\alpha$  och - $\beta$  eller TNF- $\alpha$ , står för viruselimineringen. Teorin har visats stämma för andra virus som Venezuelan equine encephalitis virus (VEE) och typ 2 herpes simplex virus (HSV-2) (Camelo *et al.*, 2000). IFN- $\gamma$  kan spela roll genom uppreglering av MHC-molekyler på gliaceller vilket medför att

cytotoxiska T-celler kan avdöda viruset (Camelo *et al.*, 2000). IFN- $\gamma$  stimulerar även syntes av NO, vilket har en antiviral aktivitet. Denna teori hävdar Camelo *et al.* (2000) är mer trolig då det redan är bevisat att T-celler inte har tillräcklig effekt.

Sammanfattningsvis har antikroppar en avgörande roll i att kunna eliminera virus från CNS. Dock är det sällan de når CNS på grund av den slutna blod-hjärnbarriären (Roy & Hooper, 2008) och det samma gäller för migrerande B-celler som kan producera VNA lokalt (Lafon, 2011). VNA tros dock ha en inhiberande verkan på virus i periferin, men har viruset redan tagit sig till CNS har de en begränsad effekt (Hooper *et al.*, 2011). IFN- $\gamma$  har en viktig funktion där det isotypswitchar IgM till IgG, men det har även effekten att uppreglera MHC vilket medför att cytotoxiska T-celler upptäcker viruset (Camelo *et al.*, 2000).

### *Cellmedierat svar*

T-celler fungerar som i det vanliga immunförsvaret mot virus, beskrivet ovan, de aktiveras och migrerar. Dock inaktiveras T-cellerna av rabiesviruset genom att CD3+ T-celler snart efter migration genomgår apoptos. Detta bidrar till att T-cellerna ej har tillräcklig effekt för att eliminera rabiesvirus (Lafon, 2011). Apoptos av T-celler regleras av Fas (CD95) och FasL (CD95L) som uttrycks på CD8+ T-celler och NK-celler. När dessa binder varandra aktiveras en signalväg för apoptos där det först bildas ett komplex, "death-inducing signaling complex" (DISC) som aktiverar kaspas-8 och -10 som i sin tur aktiverar kaspas-3 vilken ger upphov till en kaskad som leder till apoptos (Tizard, 2013). Vid rabiesinfektion sker en uppreglering av FasL mRNA vilket leder till T-cellsapoptos. Detta är bevisat genom en studie där T-cells nivåer mättes och en klar minskning av T-celler observerades efter en period och denna minskning visades bero på T-cellsapoptos (Baloul *et al.*, 2004). FasL produceras av både infekterade och icke-infekterade nervceller. De icke-infekterade nervcellerna är troligen gliaceller då de ej har lymfocytstruktur och därför ej kan vara T-celler, som i vissa fall kan producera både Fas och FasL (Baloul *et al.*, 2004).

B7-H1 är en immunosuppressiv molekyel som uppregleras av rabiesvirus och aktiveras av IFN, TNF- $\alpha$  och TLR. B7-H1 nivåerna ökar med infektionens duration. Studier har utförts där rabiesvirusinfektion inducerades i möss som saknade genen för B7-H1, vilket resulterade i minskad apoptos av CD8+ T-celler (Lafon, 2011). Det tyder på att T-celler genomgår apoptos på grund av en uppreglering av FasL och B7-H1. Dock måste T-cellerna uttrycka en ligand för dessa, Fas som är ligand till FasL och PD-1 som är ligand till B7-H1, för att genomgå apoptos (Lafon, 2011).

Ytterligare en faktor som minskar T-cellernas aktivitet är att de infekterade neuronerna frisläpper neuropeptider och neurotransmittorer, till exempel transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ), vasointestinal peptide (VIP), alpha-melanocytstimulating hormone ( $\alpha$ -MSH) eller calcitonin gene-related peptide (CGRP) (Baloul *et al.*, 2004), vilka nedreglerar T-cellers aktivitet. Det är dock bara bevisat i en attenuerad form av rabiesvirus (Lafon, 2011) och för att förstå vikten av detta krävs mer studier (Baloul *et al.*, 2004).

Sammanfattningsvis aktiveras och migrerar T-celler som vid alla andra virusinfektioner, men kort efter migrationen genomgår T-cellerna apoptos, vilket beror på att FasL och B7-H1 uppregleras (Lafon, 2011). T-cellernas aktivitet inhiberas ytterligare av att infekterade neuron



frisläpper neuropeptider och neurotransmittorer, dock är detta inte helt klarlagt (Baloul *et al.*, 2004).

## Immunförsvar vid vaccinering

Human vaccinering mot rabies i Sverige sker genom intramuskulära injektioner med levande attenuerat virus. Första dosen dag 0 och därefter två doser till dag 7 och dag 28. Boosterdos ges efter ett år och därefter var femte år eller när antikropps nivåerna är för låga (FASS, 2014).

För hundar och katter finns förebyggande vaccination med avdödat eller rekombinant virus (FASSvet, 2011; FASSvet, 2012; FASSvet, 2014) att tillgå och då sker vaccinering intramuskulärt eller subkutant med Nobivac Rabies vet. vid 3 månaders ålder och därefter var tredje år (FASSvet, 2011). För katter finns även Purevax Rabies som administreras subkutant. Grundvaccinering består av en injektion och därefter boosterdos efter ett år och sedan var tredje år. Immunitet fås 4 veckor efter grundvaccinationen (FASSvet, 2012). Ett tredje alternativ för hund och katt är Rabisin vet. som ges intramuskulärt eller subkutant. Vaccinationsschema för hund är grundvaccinering en injektion, därefter booster efter ett år och sedan var tredje år. För katt gäller två injektioner med tre till fyra veckors mellanrum och sedan re-vaccinering en gång om året (FASSvet, 2014). För att kontrollera fullgott skydd tas blodprov där antikroppstitrar mäts (FASSvet, 2012).

Efter vaccineringen uppträder IgM och IgG antikroppar. Det är bevisat att antikropparna finns kvar i 2 år efter vaccinering med HDCV (human-diploid-cell-vaccine) (Johnson *et al.*, 2010). Vid vaccinering kan attenuerade varianter av virus användas till människor som ger längre skydd och som är effektivare än ett avdödat virus. Detta kan bero på att det attenuerade viruset kan replikera i periferin och då ge upphov till ett bra immunsvaret (Thoulouze *et al.*, 1997). Eftersom vaccinet utgörs av levande attenuerat virus kommer antigen presenteras på MHC precis som vid en riktig infektion och ett T-cellssvar uppnås. Som nämnt ovan kommer två typer av T-celler utvecklas, cytotoxiska T-celler och T-celler med minne. De cytotoxiska T-cellerna kommer försvinna kort efter avslutad eliminering av viruspartiklar för att inte skada de friska cellerna, medan T-cellerna med minne finns kvar i flera år (Tizard, 2013). Huruvida vaccineringen ger skydd mot fler genotyper än genotyp 1 är oklart och nya vacciner är under utveckling, bland annat vacciner baserade på rabiesvirusets glykoprotein som kan administreras oralt (Quinn *et al.*, 2011).

## Post-vaccinering

Post-vaccinering, ”post exposure prophylaxis” (PEP), innebär behandling kort efter att infektion har skett. Detta för att förhindra att rabiesviruset transporteras till CNS (Roy & Hooper, 2008). Eftersom detta kan variera från några dagar till månader (WHO, 2013), är det för sent att vaccinera när väl infektionen av CNS skett (Roy & Hooper, 2008). Det är ännu viktigare med kort tid till behandling om infektionsvävnaden är högt innerverad, till exempel fingertoppar eller ansikte. Om infektionen skett där tar transporten till CNS kortare tid och symtom bryter ut snabbare. Det är inte heller säkert att PEP fungerar om infektionen skett i sådana områden (Hooper *et al.*, 2011).

PEP består av ordentlig sårrengöring genom tvätt med vatten och tvål för att sedan rengöra med 70 % alkohol (WHO, 2013). Därefter följer behandling med rabiesvirus specifika VNA och aktiv immunisering (Roy *et al.*, 2008; Hooper *et al.*, 1998). Den aktiva immuniseringen antas ha en viktig verkan för att kunna förhindra att virus når och replikerar i CNS då det snabbare når CNS än rabiesvirusspecifika VNA (Hooper *et al.*, 1998). PEP utförs genom att vid upprepade tillfällen administrera intramuskulära injektioner med vaccin. Möjligen kan vaccinet administreras intradermalt, vilket skulle resultera i lägre doser och lägre kostnader, men denna metod är inte utvärderad i praktiska studier (Johnson *et al.*, 2010).

I Sverige består human post-vaccinering för ovaccinerade av fem doser, dag 0, 3, 7, 14 och 28, av Rabies-Imovax. Samtidigt som vaccinet administreras ges även rabiesimmunoglobulin 20 IU/kg kroppsvikt, om exponeringen för viruset uppskattas som hög risk. Dessa två injektioner administreras på olika ställen. Skulle personen vara vaccinerad ges enbart två doser post infektion, dag 0 och 3. Om individen är ofullständigt vaccinerad eller att det gått mer än fem år sedan senaste vaccinationen tas blodprov för att avgöra antikropps nivåer av vilka behov av vaccin och antal doser kan bestämmas (FASS, 2014). Dock görs inte dessa antikroppstester frekvent då det enbart är standard i vissa situationer som vid exempelvis immunosupprimerade individer (WHO, 2013).

I USA finns ingen rapportering att PEP misslyckats. Dock finns sådana rapporter från andra delar av världen. En trolig orsak till detta är att bettet, eller infektionsingången, är beläget i ett högt innerverat område och transporten till CNS går för snabbt och virus nått CNS innan behandlingen hinner påbörjas (Hooper *et al.*, 2011).

Idag finns inget botemedel mot rabiesinfektion när sjukdomen väl brutit ut och detta beror delvis på sätten som rabiesviruset lyckas undvika immunförsvaret. Vaccinering är således det enda skyddet som samhället har mot rabies idag och det är viktigt med fortsatt forskning för att kunna minska antalet dödsfall i rabies, både humana dödsfall och antalet djur som dör i rabies.

## DISKUSSION

När infektion med rabiesvirus sker känns viruspartiklarna igen på TLR (Lafon, 2011) vilket ger IFN svar och uppreglering av STAT1, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  IL-6, IL-1 $\beta$ , T-cells tillväxtfaktor- $\beta$  och TLR (Johnson *et al.*, 2006a). IFN inducerar produktion av antivirala proteiner som Mx1 (Johnson *et al.*, 2006a). När IFN finns tillgängligt inducerar TLR3 apoptos av infekterade celler (Lafon, 2011). Det adaptiva immunförsvaret som utvecklas ger upphov till VNA som har en inhiberande verkan på virusets spridning från periferin till CNS. Dock transporteras VNA med migrerande B-celler vilka ej har hittats i CNS vid rabiesinfektion (Lafon, 2011).

IFN- $\gamma$  har en viktig funktion i det adaptiva immunförsvaret då det isotypswitchar IgM till IgG, men vikten av antikroppar vid infektion i CNS är diskuterad. Istället anses teorin att IFN och TNF- $\alpha$  står för elimineringen av virus från CNS mer rimlig. IFN- $\gamma$  uppreglerar MHC på gliaceller vilket gör att CTL kan avdöda viruset (Camelo *et al.*, 2000). Detta kan tänkas vara negativt i CNS då även friska celler kan bli dödade av CTL och det är därför blod-hjärnbarriären vid friskt tillstånd hålls tätt sluten. En tanke har varit att det är skadan som immunförsvaret orsakar på nervcellerna som ger upphov till neurologiska symptom, men detta är ej bekräftat för rabiesvirus (Phares *et al.*, 2006). T-celler aktiveras av viruset och migrerar men rabiesvirus

gör att T-cellerna går i apoptos snart efter migrationen (Lafon, 2011). Sammanfattningsvis är det en självklarhet att IFN spelar en viktig roll i immunförsvaret mot rabiesvirus, dock undviker viruset immunförsvaret på flera vis, som beskrivs nedan.

Immunförsvarets reaktion på rabiesvirus är fördröjt av olika anledningar men det är också hämmat vilket resulterar i att infektionen är fatal. Fördröjningar kan bero på låg infektionsdos och att viruset måste replikera i CNS för att bli upptäckt av immunförsvaret (Johnson *et al.*, 2010). Immunförsvaret blir hämmat på grund av tätt slutet blod-hjärnbarriär (Chopy *et al.*, 2011) och inducerande av apoptos av immunförsvarsceller (Baloul *et al.*, 2004; Lafon, 2011). Dessutom har rabiesvirus en överlevnadsstrategi där det bildar Negrikroppar för att skydda infekterade neuron från apoptos (Lafon, 2011). Nyckeln till att överleva infektionen verkar vara att hinna producera ett tillräckligt stort antikroppsvar på plats vid infektionsstället innan virus når CNS. När det väl når CNS är det svårt för B-celler att passera blod-hjärnbarriären och för att lyckas med det tror forskare att om blod-hjärnbarriärens permeabilitet kan ökas, kan inträdet av antikroppar öka och därmed skulle infektionen teoretiskt sett kunna elimineras, dock är detta ännu ej fungerande i praktiken (Roy & Hooper, 2008).

Att viruset alltid är fatalt är ett påstående som kan diskuteras. Vissa forskare (Johnson *et al.*, 2010) påstår att det kanske inte alltid är fallet, och studier på fladdermöss visar på att de kan överleva infektionen (Steece *et al.*, 1999). Johnson *et al.* (2010) föreslår att om individen blir smittad, men inte blir allvarligt sjuk, kommer denne troligen ej söka vård och kommer därför ej bli diagnosticerad med rabies. Vissa personer kanske har en naturlig immunitet och då kommer inte heller infektionen bryta ut på dem. En annan tanke kan vara att det kanske finns symptomlösa bärare. Dessa kommer ej heller söka vård och blir då inte heller diagnosticerade. Dock borde detta upptäckas då de troligen skulle sprida smittan vidare och individer i omgivningen skulle bli sjuka, till exempel om saliv från smittad individ kommer i kontakt med sår på annan individ. Men detta bygger det på att infekterade individer utsöndrar virus även om symptom inte finns. Huruvida något av dessa alternativ förekommer kräver fler studier för att klarlägga.

Rekommendationen för människor är att vaccination ska genomföras innan resa till områden där rabies är frekvent förekommande och om resan innebär hög kontakt med djur. Rekommendationen för djur är att om de ska resa ska de vara rabiesvaccinerade. Viktigast är dock att resenärerna blir informerade om riskerna och att de ska undvika kontakt med djur under utlandsvistelsen (FASS, 2015). Detta borde gälla både tama som vilda djur då det lätt kan ske en smittspridning mellan dessa. Det finns även kontrollprogram runt om i världen för att minska förekomsten av rabies och dessa består av vaccinering i förebyggande syfte. Framför allt av hundar, som även avlivas, då det är den största smittrisen för människor (OIE, 2015). Forskare har även funderat på ett luftburet vaccin för att kunna vaccinera fladdermöss direkt i deras grottor och då minska spridningen från dessa. Vaccinering har även gjorts med vaccin i mat som lags ut till bland annat rävar för att minska spridningen bland dessa (Adedeji *et al.*, 2010). Denna metod har möjliggjort att sylvatisk rabies har utrotats i stora delar av västra Europa (Quinn *et al.*, 2011). Fler studier behövs för att få fram ett billigt vaccin som är lätt att administrera för att minska spridning från vilda individer. Avlivning görs alltid idag av infekterade djur.

Rekommendationer finns för laboratoriepersonal, sjukvårdspersonal och djurhälsopersonal att vaccinera sig då det finns risk för smitta och även sådan smitta som det inte är självklart när

den sker. Detta med tanke på att det finns en risk att viruset sprids via aerosol och det kan finnas risk för läckage i laboratorier om något skulle gå fel. Även personer som arbetar i skogslandskap i U-länder eller personer som vistas där det är mer än ett dygns resväg till närmaste sjukhus rekommenderas vaccination (FASS, 2015).

I Sverige är läget just nu gott. Det finns rabiesvaccin att tillgå och det är ingen smitta av klassiskt rabiesvirus som finns fritt i populationen sedan 1886 (Folkhälsomyndigheten, 2013). Smittkällor för fall i Sverige är därmed importerade djur eller invandrade vilda djur. Möjligtvis är detta ett ökande problem med illegal import av djur från endemiska områden.

Postvaccinering är 100 % effektivt om det administreras i tid och det finns goda riktlinjer och vaccinationsscheman för hur det ska utföras. Precis som vaccinationsråden (FASS, 2015) säger är det viktigt att informera djurägare som tänker importera djur eller resenärer till områden med rabies om riskerna att bli smittade och om vikten av snabb vaccinering om bitt skulle ske. De bör vara medvetna om att även om djuret ej anses sjukt kan virusutsöndring ske 4-5 dagar (North Dakota Department of Health, 2013) innan symptom uppkommer. När symptom uppträder är sjukdomen fatal.

Sammanfattningsvis kan det sägas att även om det finns mycket kunskap om rabiesvirus krävs mer forskning. Att kunna bota sjukdomen även efter att symptom uppkommit vore ett genombrott och det skulle leda till att många fler människor och djur får behålla sina liv. Detta är dock långt borta och vad fokus bör ligga på nu är att ta fram ännu effektivare vaccin som gör att smittan i den fria populationen av djur kan kontrolleras. Information om viruset, dess smittvägar och reservoarer är också mycket viktigt. I bästa fall kan då viruset utrotas.

## REFERENSLISTA

- Adediji, A., Okonko, I., Eyarefe, O., Adediji, O., Babalola, E., Ojezele, M., Nwanze, J. & Amusan, T. (2010). An overview of rabies – History, epidemiology, control and possible elimination. *African Journal of Microbiology Research*, 4(22): 2327-2338
- Baloul, L., Camelo, S. & Lafon, M. (2004). Up-regulation of Fas ligand (FasL) in the central nervous system: A mechanism of immune evasion by rabies virus. *Journal of NeuroVirology*, 10: 372-382
- Camelo, S., Lafage, M. & Lafon, M. (2000). Absence of the p55 Kd TNF- $\alpha$  receptor promotes survival in rabies virus acute encephalitis. *Journal of NeuroVirology*, 6: 507-518
- Chopy, D., Pothlichet, J., Lafage, M., Mégret, F., Fiette, L., Si-Tahar, M & Lafon, M. (2011). Ambivalent Role of the Innate Immune Response in Rabies Virus Pathogenesis. *Journal of Virology*, 85(13): 6657-6668
- Cleaveland, S., Fèvre, E., Kaare, M. & Coleman, P. (2002). Estimating human rabies mortality in the United Republic of Tanzania from dog bite injuries. *Bulletin of the World Health Organization*, 80: 304-310
- Dietzscold, B., Li, J., Faber, M. & Schnell, M. (2008). Concepts in the pathogenesis of rabies. *Future Virology*, 3(5):481-490
- FASS (2015-01-26). *Fakta för forskrivare*.  
<http://www.fass.se/LIF/healthcarefacts;jsessionid=b9zvDOA11irruRg8oo4tQi-Bai0B1GZIG-5rsszoWpqGKvXfFgFt!1839151045?docId=18380&userType=0> [2015-03-06]
- FASS (2014-11-20). *Rabies-Imovax*.  
<http://www.fass.se/LIF/product?userType=2&nplId=19860131000052> [2015-03-04]
- FASSvet (2011-12-22). *Nobivac Rabies vet*.  
<http://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=19981218000021> [2015-03-04]
- FASSvet (2012-03). *Purevax Rabies*.  
<http://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=20100115000224> [2015-03-04]
- FASSvet (2014-04-03). *Rabisin vet*.  
<http://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=20060511000214> [2015-03-04]
- Folkhälsomyndigheten (2013-10-17). *Sjukdomsinformation om rabies*.  
<http://www.folkhalsomyndigheten.se/amnesomraden/smittskydd-och-sjukdomar/smittsamma-sjukdomar/rabies/> [2015-03-04]
- Hooper, D., Morimoto, K., Bette, M., Weihe, B., Koprowski, H. & Dietzshold B. (1998). Collaboration of Antibody and Inflammation in Clearance of Rabies Virus from the Central Nervous System. *Journal of Virology*, 72(5): 3711-3719
- Hooper, D., Roy, A., Barkhouse, D., Li, J. & Kean, R. (2011). Rabies Virus Clearance from the Central Nervous System. *Advances in Virus Research*, 79: 55-71
- Johnson, N., McKimmie, C., Mansfield, K., Wakeley, P., Brookes, S., Fazakerley, J. & Fooks, A. (2006a). Lyssavirus infection activates interferon gene expression in the brain. *Journal of General Virology*, 87: 2663-2667

- Johnson, N., Phillpotts, R. & Fooks, A. (2006b). Airborne transmission of lyssaviruses. *Journal of Medical Microbiology*, 55: 785-790
- Johnson, N., Cunningham, A. & Fooks, A. (2010). The immune response to rabies virus infection and vaccination. *Vaccine*, 28: 3896-3901
- Kawai, T., Takahasi, K., Sato, S., Coban, C., Kumar, H., Kato, H., Ishii, K., Takeuchi, O. & Akira, S. (2005). IPS-1, an adaptor triggering RIG-I and Mda5-mediated type I interferon induction. *Nature immunology*, 6: 981-988
- Lackay, S., Kuang, Y. & Fu, Z. (2008). Rabies in small animals. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, 38(4): 851-ix
- Lafon, M. (2011). Evasive Strategies in Rabies Virus Infection. *Advances in Virus Research*, 79: 33-53
- Lentz, T., Burrage, T., Smith, A. & Tignor, G. (1983). The Acetylcholine Receptor as a Cellular Receptor for Rabies Virus. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 56: 315-322
- North Dakota Department of Health, Rabies Program (2013). *Questions and Answers about Rabies*. <http://www.ndhealth.gov/disease/rabies/qanda.htm> [2015-03-18]
- Phares, T., Kean, R., Mikheeva, T. & Hooper, C. (2006). Regional Differences in Blood-Brain Barrier Permeability Changes and Inflammation in the Apathogenic Clearance of Virus from the Central Nervous System. *The Journal of Immunology*, 176: 7666-7675
- Quinn, P., Markey, B., Leonard, F., FitzPatrick, E., Fanning, S. & Hartigan, P. (2011). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. 2. Ed. Singapore: Wiley-Blackwell, 668-672
- Roy, A. & Hooper, D. (2008). Immune Evasion by Rabies Viruses Through the Maintenance of Blood-Brain Barrier Integrity. *Journal of NeuroVirology*, 14: 401-411
- Steece, R. & Altenbach, J. (1999). Prevalence of Rabies Specific Antibodies in the Mexican Free-Tailed Bat (*Tadarida brasiliensis Mexicana*) at Lava Cave, New Mexico. *Journal of Wildlife Disease*, 25(4): 490-496
- Takayama, N. (2005). Clinical feature of human rabies. *Nihon Rinsho*, 63(12): 2175-2179
- Tizard, I. (2013). *Veterinary Immunology*. 9. ed. St. Louis: Elsevier, 75 och 296-302
- Thoulouze, M., Fafage, M., Montano-Hirose, J. & Lafon, M. (1997). Rabies Virus Infects Mouse and Human Lymphocytes and Induces Apoptosis. *Journal of Virology*, 71(10): 7372-7380
- Vidy, A., Chelbi-Alix, M. & Blondel, D. (2005). Rabies Virus P Protein Interacts with STAT1 and Inhibits Interferon Signal Transduction Pathways. *Journal of Virology*, 79(22): 14411-14420
- Wikimedia Commons (2015). *Category Rhabdoviridae*. <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/56/Rhabdovirus.png> [2015-03-16]
- World Health Organisation (2013). *FAQs Frequently Asked Questions on Rabies*. [www.who.int/rabies/resources/SEA\\_CD\\_278\\_FAQs\\_Rabies.pdf](http://www.who.int/rabies/resources/SEA_CD_278_FAQs_Rabies.pdf) [2015-03-06]
- World Health Organisation (2014-09). *Rabies*. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs099/en/> [2015-03-04]
- World Health Organisation (2015). *About Rabies*. <http://www.who.int/rabies/about/en/> [2015-03-16]

- World Organisation for Animal Health (2015). *Rabies Portal: What is rabies?*  
<http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/rabies-portal/about-rabies/> [2015-03-04]
- Xiang, Z., Knowles, B., McCarrick, J. & Ertl, H. (1995). Immune Effector Mechanisms Required for protection to Rabies Virus. *Virology*, 214: 398-404